

9. 真菌部

部長 宮崎 義継

概要

真菌部は、真菌感染症に関する調査研究を主な任務としている。真菌症の疫学研究、ならびに、病原真菌の病原因子や宿主免疫制御機構の解明、感染症制御薬やワクチン等の基盤強化と応用を目標として調査研究を推進している。

わが国の三大侵襲性真菌症は、カンジダ症、アスペルギルス症、ならびにクリプトコックス症である。平成26年9月に五類全数把握疾患に規定された播種性クリプトコックス症については、発生率や患者背景、予後等の情報が明らかになりつつある。真菌感染症の公衆衛生的重要性が増す中、真菌部では真菌症の制圧を目標として以下の様な調査研究を実施した。

平成27年度は播種性クリプトコックス症の疫学研究、各種真菌に関する病原因子解明に関する基盤研究、アスペルギルス属の分子疫学や治療法に関する研究、病原体診断に関する調査研究を行った。宿主因子制御に関しては、病原体の認識分子や自然免疫機構の役割、ワクチン応用に関する研究を実施した。感染症制御薬に関しては、新規薬剤シーズの探索や薬剤耐性機構の研究、細胞内シグナル制御の解明と応用に基づく感染症制御、既存薬の新規薬効の応用等に関する研究を行った。

今年度の主たる研究項目は下記のとおりである。

- I. 病原真菌の病原性解明と新しい診断・治療法開発と疫学研究
- II. 宿主因子と免疫制御の解明による難治性感染症の制圧に関する研究
- III. 微生物の有用遺伝子探索による感染症治療薬開発と薬剤耐性制御に関する研究
- IV. 新しい薬物活性評価系の研究、ならびに、細胞内シグナル伝達制御の解明に基づく感染症制御に関する研究

真菌部各室が実施した主な業務は、それぞれ以下のとおりである。

第1室は、真菌症の疫学研究、真菌病原因子に関する研究と真菌検査業務、真菌レファレンス業務を担当した。病原体としては、侵襲性真菌症の原因として最多のカンジダ属を対象とし、薬剤耐性機構と病原因子の解明に関する研究を実施した。また、免疫不全宿主にみられるアスペルギルス等の糸状菌感染症に関しては、病原因子探索に基づく診断・治療への応用に関する研究を行った。

第2室は、真菌多糖の構造解析に基づく病原性の解析、新規あるいは既存薬の未知の薬物活性や薬物相互作用の探索、宿主および病原微生物の細胞内シグナル伝達系の解明とそれを応用した疾病制御に関する研究を行った。また、検査業務のうち後発医薬品の収去検査を第4室と共同で実施した。

第3室は、クリプトコックス属や肺炎球菌、インフルエンザ等を対象として宿主因子や免疫機構の解明と、その制御に基づく難治性感染症の病態研究やワクチンに関する基盤研究を実施した。

また、真菌検査業務のうち法的規制にかかる病原体とBSL3真菌の管理業務を担当した。

第4室は、放線菌や真菌の二次代謝産物等の探索と代謝経路の解明や、新規感染症薬の探索研究等を実施した。また、検査業務として、病原真菌検査の標準作業手順書の作成や、後発医薬品の収去検査を分担し実施した。

行政対応として、真菌に関する各種行政検査、独立行政法人医薬品医療機器総合機構の専門審査等を実施した。国際交流では、ベトナムNIHE、タイNIHとヒストブ

真菌部

ラスマ症、クリプトコックス症に関する疫学研究診断や分子疫学調査に関する研究を実施した。

業績

調査・研究

I. 病原真菌の病原性解明と新しい診断・治療法開発と疫学研究

1. 地域流行型真菌症の研究

(1) 高病原性クリプトコックス症に対する免疫応答に関する検討

C. neoformans によるクリプトコックス症は免疫不全患者で重症化するといわれている。一方、健常者に致死感染症を起こす *C. gattii* が報告されているが、高病原性の原因は明らかでない。これまでに、高病原性 *C. gattii* は宿主免疫を誘導しにくいことを示唆してきた。そこで、高病原性株および通常株の細胞表層に存在する莢膜多糖を精製し、その化学構造と樹状細胞に対する炎症性サイトカイン産生誘導能を比較した結果、高病原性株の莢膜多糖は免疫誘導能の低い構造であることが示唆された。

[浦井 誠、上野圭吾、金城雄樹、宮崎義継]

(2) マクロライド系薬による高病原性クリプトコックス症の病原性制御に関する研究

Clarithromycin (CAM)の*C. gattii*に対する病原性抑制効果について検討した。CAMと共培養した高病原性 *C. gattii*では、 H_2O_2 や β -defensinに対する感受性が亢進し、好中球殺菌に対する抵抗性も低下していた。さらにCAM処理による莢膜の菲薄化を確認しており、自然免疫による排除促進との関連が示唆された。

[中村茂樹、壇辻百合香、名木 稔、梅山 隆、山越智、宮崎義継]

(3) 高病原性クリプトコックス脳髄膜炎に対するIFN- γ 補充療法の有効性に関する検討

クリプトコックス脳髄膜炎マウスモデルを作成し、高病原性 *C. gattii* 及び *C. neoformans* のIFN- γ 補充療法に対する反応を比較した。*C. gattii* ではIFN- γ 補充療法の有効性は認められなかったが、*C. neoformans* では生存率が有意に改善した。

[壇辻百合香、中村茂樹、名木 稔、梅山 隆、山越智、大野秀明 (埼玉医大)、宮崎義継]

2. アスペルギルス症に関する研究

(1) *Aspergillus fumigatus* Y1、B11 タンパク質に対するファージ抗体の作成

これまでに、血液を対象とした新規アスペルギルス症診断薬の作成を目的として高感度のサンドイッチELISA系を構築したが、ヒト血清の影響によりバックグラウンドの上昇、感度の低下がみられることが判明し、反応条件検討および得られた抗体のすべての組み合わせを変えても改善されなかった。そこでヒト血清の影響の少ない新たな抗体の取得を目的として、ヒト抗体ファージライブラリーを用いて、大量スクリーニングにより各タンパク質に対するファージ抗体を数十種類取得し、その中から血清の影響の少ない抗体を選別した。

[山越 智、梶川益紀(医学生物学研究所)、橋本ゆき、梅山 隆、名木 稔、中村茂樹、宮崎義継]

(2) *A. fumigatus* 分泌タンパク質遺伝子欠損株の血清応答

これまでに、分泌タンパク質 Y52、Y69、B11a、B11b、B11c の遺伝子欠損株が、マウス侵襲性肺アスペルギルス症マウスモデルにおいて病原性が低下すること10%の血清を含む寒天培地での培養において37℃では生育に影響はないが、25℃で低下が観察されていた。そこで、今年度は血清を含む液体培養での生育およびバイオフィーム形成への影響について検討した。37℃の10% FCS-DMEM 液体培養において、Y52、B11a、B11b、B11c の遺伝子欠損株で生育の低下が観察された。一方、Y69 の生育ではほとんど影響が見られなかったが、バイオフィーム形成において著しい低下が見られた。それら分泌タンパク質遺伝子欠損株の

真菌部

体液中での生育およびバイオフィーム形成の低下が病原性の低下につながる可能性が示唆された。

[犬飼達也、山越 智、梅山 隆、名木 稔、中村茂樹、宮崎義継]

(3) *A. fumigatus* の増殖制御とバイオフィームの研究

Aspergillus fumigatus の治療抵抗性の因子に、ヒト体内で慢性的に定着・増殖し、薬剤抵抗性を示す理由のひとつと推測されるバイオフィーム形成が示唆されている。本菌のバイオフィーム形成は、宿主の血清成分に応答して亢進することが知られているがメカニズムは未解明である。このメカニズムの手がかりを得るために、シグナル伝達や細胞外分泌に関与すると予測されるいくつかの遺伝子の破壊株を作製し、これらの株を用いて、血清添加有無の条件でバイオフィームを形成させ、Crystal violet を用いてバイオマスの定量および XTT assay により抗真菌薬感受性に及ぼす影響を評価した。いくつかの遺伝子破壊株で、血清添加によるバイオフィーム形成の亢進が観察されず、抗真菌薬への感受性低下も抑制された。血清存在下での菌糸生育能に必須な因子が示唆されたため、遺伝子破壊株を手がかりに遺伝子発現をマイクロアレイにより網羅的に解析し、血清応答に関連する因子の探索研究を開始した。

[犬飼達也、梅山 隆、宇田晶彦(獣医科学部)、山越 智、中村茂樹、名木 稔、宮崎義継]

(4) アゾール耐性 *Aspergillus* 属のゲノム解析

近年、アスペルギルス症の治療薬として重要な位置を占めているアゾール系抗真菌薬に低感受性を示す菌種や臨床分離株が問題となっている。真菌部において保有しているアゾール耐性 *A. fumigatus* 1 株、*A. fumigatus* 近縁種である *A. lentulus* 2 株、*A. viridinutans* 1 株の合計 4 株について、ゲノム DNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析を行った。その結果、*Aspergillus* 属のアゾール耐性の原因と予想されているアゾール薬標的の CYP51A には変異を確認できず、それ以外の耐性に寄与する可能性の

ある遺伝子の変異について逐一検討したが、特定には至らなかった。

[梅山 隆、石川 淳、壇辻百合香、中山靖子、犬飼達也、中村茂樹、山越 智、名木 稔、宮崎義継]

3. カンジダ症に関する研究

(1) 薬剤耐性メカニズムとしてのステロール合成・代謝に関連する研究

C. glabrata の細胞外ステロール取り込みは感染時の臓器定着とアゾール感受性に関連すると考えられる。遺伝的に近縁種である *S. cerevisiae* ではマンノプロテインをコードする *DANI* 遺伝子がステロール取り込みに必須であるとされている。*C. glabrata* において *DANI* と相同性の高い遺伝子の遺伝子破壊株を作製し、ステロール取り込み活性を調べた結果、*TIR3* 遺伝子を破壊するとステロール取り込みが消失することを見出した。また、ステロール取り込みが活性化する低酸素条件や鉄欠乏条件では *TIR3* の遺伝子発現量が顕著に増加していることを明らかにした。ステロール恒常性維持に関与している転写調節因子である *CgUPC2A* の遺伝子破壊株では *TIR3* の発現量の増加が消失したことから、*TIR3* 発現調節を介したステロール取り込みの活性化に *CgUPC2A* が関与していることが示唆された。

[名木 稔、田辺公一(龍谷大・農学部)、中山浩伸(鈴鹿医療科学大・薬学部)、山越 智、梅山 隆、中村茂樹、宮崎義継]

(2) *C. glabrata* におけるミトコンドリア選択的オートファジーと病原性との関連

C. glabrata の生息する宿主体内環境には多量の鉄結合タンパク質が存在し、菌が利用することのできる遊離鉄の濃度は極めて低い。鉄欠乏応答機構が宿主体内での生育や病原性に重要であるとの仮説の基、網羅的遺伝子発現解析を行った結果、*C. glabrata* では鉄欠乏条件においてマイトファジーに必須な *ATG32* の発現量が増加することがわかった。鉄欠乏

真菌部

環境での生育や病原性におけるマイトファジーの役割を解明することを目的として研究を行った。鉄欠乏培地で野生株およびATG32破壊株を長期間(-12日間)培養し、生存率を比較したところ、野生株では12日間培養時点で約20%程度の生存率を維持していたが、ATG32破壊株では4日間で死滅することがわかった。マウス感染実験により、ATG32破壊株では野生株と比較し、腎臓と脾臓における生菌数が著明に低下することが明らかとなった。*C. glabrata* のマイトファジーは鉄欠乏条件における生存に必要であり、病原性に関与していることが示唆された。

[名木 稔、田辺公一(龍谷大・農学部)、山越 智、梅山 隆、中村茂樹、宮崎義継]

II. 宿主因子と免疫制御の解明による難治性感染症の制圧に関する研究

1. *Cryptococcus gattii* に対する樹状細胞ワクチンの感染防御効果持続性に関する検証

我々は高病原性 *Cryptococcus gattii* (*Cg*) に対する樹状細胞 (DC) ワクチンを開発し、このワクチンが感染制御に有効であることを示した (Ueno *et al.*, *Infect Immunol*, 2015)。これまでの解析では、DC ワクチン投与後、直ちに感染実験を実施していたため、このワクチンの持続性は不明であり、どのような記憶免疫が誘導されたかも不明であった。平成 27 年度の解析では、DC ワクチンを投与し、2-7 ヶ月経過後に *Cg* を経気道感染または尾静脈感染させた。その結果、どちらの感染モデルにおいても、感染後の生存率や臓器内菌数は有意に改善され、DC ワクチンの感染制御効果に持続性があることが明らかになった。DC ワクチン投与後にどのような記憶免疫が誘導されているかを検証したところ、ワクチン投与後の非感染状態の肺で組織常在性記憶型 CD4⁺ T 細胞 (Lung CD4 TRM) が有意に増加していることを見出した。現在、Lung CD4 TRM の性状解析を進めるとともに、Lung CD4 TRM が DC ワクチンによる感染制御効果に関与しているかを検証している。

[上野圭吾、金城雄樹、浦井 誠、大河内香代、高塚翔吾、清水公德 (東京理科大 基礎工学部)、宮崎義継]

2. *Cryptococcus gattii* における荚膜合成の生理学的意義に関する解析

従来、荚膜多糖はクリプトコックス属菌の病原性因子と考えられてきた。しかし、近年、荚膜多糖に依存しない病原性機構も指摘されており、荚膜多糖の生理学的意義については十分に整理されていない。また、*Cryptococcus gattii* (*Cg*) において *Cryptococcus neoformans* (*Cn*) と同様に、荚膜多糖が病原性因子である証拠もない。平成 27 年度は、遺伝子組換え技術で作製した *CAP60* 遺伝子欠損株 (*CAP60Δ*) とその相補株 (*CAP60C*) について、マウス経気道感染実験における病原性を検証した。その結果、*CAP60Δ* の病原性は完全に消失することが確認された。その後の解析で、*CAP60Δ* の生育は、低酸素条件や低栄養条件で障害されることが明らかになった。これは、*Cn* の荚膜欠損株では報告されていない現象である。低酸素・低栄養適応性は、病原性真菌の一般的な病原性因子であることから、*CAP60Δ* の低酸素・低栄養適応障害は低病原性の一因になることが推察された。現在、*CAP60Δ* で低酸素・低栄養適応障害が生じる機序について解析を進めている。

[上野圭吾、金城雄樹、浦井 誠、大河内香代、清水公德 (東京理科大 基礎工学部)、宮崎義継]

3. 好中球に発現する LMIR3 の機能解析

抑制型受容体 LMIR3 (leukocyte mono-immunoglobulin-like receptor 3) は好中球の細胞表面に発現し、病原体の刺激で発現が増加する。この発現上昇は、TLR4/MyD88 経路依存的である。一方で、LMIR3 の発現が好中球機能を制御しているかは不明であった。平成 27 年度の解析で、LMIR3 遺伝子欠損マウスの好中球では、Cyto-ID green Dye や LysoTracker で染色される酸性小胞を有意に多く含むことが明らかになったが、LC3 分子のウェスタンブロッ

真菌部

ト解析では、オートファジーが亢進している証拠を得ることができなかった。上記の染色剤はアズール顆粒も染色する可能性が推察されることから、現在、LMIR3がアズール顆粒の分化を制御するかを検証している。[上野圭吾、金城雄樹、北浦次郎・伊沢久未（順天堂大学大学院医学研究科）、宮崎義継]

4. 新規抗真菌薬の開発研究

カンジダ属菌などによっておこる深在性真菌感染症は、積極的な抗真菌薬治療においても致死率が高いことが問題となる。抗真菌薬の種類が限られていることが要因の一つであることから、新規抗真菌薬の開発が求められている。本研究では、新規抗真菌薬の候補として、S-ニトロソ化蛋白に着目し、カンジダ属4菌種及びクリプトコックス属2菌種に対する薬剤感受性試験を行った。標準的試験法である CLSI法に準じて解析を行ったところ、S-ニトロソ化蛋白は解析した6菌種全てに対して、抗真菌活性を示した。今後更なる解析を行い、S-ニトロソ化蛋白の抗真菌作用を評価する予定である。

[金城雄樹、酒井 純、仲原真貴子、大河内香代、上野圭吾、異島 優・丸山 徹(熊本大学薬学部)、宮崎義継]

5. 肺炎を予防する新規ワクチンの開発研究

肺炎は日本人の死因で3番目に多い。肺炎球菌はその起炎菌として頻度が高く、小児における髄膜炎などの侵襲性感染症の起炎菌としても重要である。また、肺炎球菌はインフルエンザウイルス感染に続発する細菌性肺炎の原因菌として最も頻度が高く、続発性肺炎球菌感染は重篤化することが多い。本研究では新規の肺炎球菌ワクチン開発を目指した基礎的検討を行っている。これまでに肺炎球菌蛋白・糖脂質経鼻ワクチンを接種したマウスでは、血中に抗原特異的 IgG 抗体価の上昇を認め、感染防御効果を認めることを明らかにした。今年度は、現行の結合型多糖体ワクチンに含まれない非ワクチン血清型の菌株に対する感染防御効果を明らかにした。ま

た、インフルエンザ続発性肺炎球菌感染マウスモデルを構築し、本肺炎球菌蛋白・糖脂質経鼻ワクチンがインフルエンザ続発性肺炎球菌感染に対しても防御効果をもたらすことを示唆する結果を得た。これらの結果は、肺炎球菌蛋白・糖脂質ワクチンの有効性を示唆するものである。現在、本ワクチンの有効性及び感染防御効果をもたらす機序について解析を進めている。

[金城雄樹、仲原真貴子、大河内香代、高塚翔吾、上野圭吾、浦井 誠、小野寺大志・高橋宜聖(免疫部)、朴 貞玉・明田幸宏(大阪大学微生物病研究所)、川上和義(東北大学大学院医学系研究科)、大石和徳(感染症疫学センター)、宮崎義継]

6. 侵襲性感染症起炎菌の蛋白抗原の解析

肺炎球菌性肺炎や侵襲性肺炎球菌感染症の病態を明らかにするうえで肺炎球菌の菌学的解析は重要である。本研究では、昨年度に引き続き、全ての肺炎球菌に認められ、病原性因子としても重要な pneumococcal surface protein A (PspA) 蛋白の clade 解析を行った。今年度までに、侵襲性肺炎球菌感染症例から分離した434株の PspA 蛋白の型を決定した。小児用肺炎球菌ワクチンの定期接種により、成人においても血清型置換が明らかになっているが、血清型置換に伴い、PspA 蛋白の型にも変化が生じていることが示唆された。

[金城雄樹、常 彬・大西 真(細菌第一部)、大石和徳(感染症疫学センター)、宮崎義継]

7. サイトカイン LECT2 の *Aspergillus fumigatus*

感染における生体防御に関する研究

これまでに、サイトカインLECT2が*A. fumigatus*肺感染において、菌体排除に関与することがLECT2遺伝子欠損マウスの解析により分かっていた。今年度は、炎症性サイトカインの産生等について解析した。その結果、LECT2が肺胞マクロファージの機能に関わることを示唆された。

真菌部

[山越 智、橋本ゆき、上野圭吾、浦井 誠、梅山 隆、
名木 稔、中村茂樹、金城雄樹、宮崎義継]

III. 微生物の有用遺伝子探索による感染症薬開発と薬剤耐性機構に関する研究

1. 感染症治療薬開発に関する研究

(1) 次世代シーケンサーを用いた放線菌プロモーターの検索

感染症治療薬の開発において極めて重要な役割を担う放線菌株のプロモーター配列を網羅的に調査するために、ストレプトマイシン生産菌である *Streptomyces griseus* から抽出した RNA を次世代シーケンサーを用いて解析し、転写開始点を含む約 45 万リード (rRNA に由来するものを除く) を得た。

[石川 淳、大原菜月]

(2) 生物活性物質生合成遺伝子探索ツールの開発

感染症治療薬のシードとなる生物活性物質の生合成に与るタンパクに頻繁に見出されるドメインを指標として、放線菌ゲノムに含まれる生物活性物質生合成遺伝子クラスターを効率的に見出すためのウェブツール (2ndFind, <http://biosyn.nih.go.jp/2ndfind/>) を前年度に引き続き運用し、年度内に国内外から 18,499 回の利用があり、前年度より 39% 増加した。

[石川 淳]

(3) キャンディン系抗真菌化合物の生合成

キャンディン系抗真菌化合物の生合成を明らかにすることを目的とし、これまでに次世代シーケンサーを用いたゲノム解析・ゲノム情報を用いた生合成遺伝子の探索や遺伝子破壊株を用いた解析を行ってきた。本年度は、キャンディン系抗真菌化合物の生合成において、クラスター内に存在するプロリン水酸化酵素が、構造内に存在する 2 つのプロリン骨格の、どこを水酸化しているかを明らかにするために、破壊株の解析を行った。破壊株で生産される化合物は、酸素分子 1 つ小さい化合物であったことから、どちらか一方のプロ

リン骨格の水酸化に関与していると示唆された。

[星野泰隆、石川 淳]

(4) ノカルジア属放線菌の生産するシデロフォアの探索

シデロフォアは、細菌が外界 (鉄濃度の低い環境: 生体内等) から鉄を獲得し、利用するために生産するキレート化合物であり、病原菌においては病原因子とも言われている。そこで、病原性放線菌ノカルジアにおけるシデロフォアの生産を確認、検討した。その結果、いくつかの種において、菌体内および菌体外生産されているシデロフォアの生産が確認され、それらの単離・精製を行った。

[星野泰隆、石川 淳]

2. 薬剤耐性機構に関する研究

(1) *Aspergillus* のアゾール耐性メカニズムの解明

Aspergillus 属におけるアゾール耐性メカニズムとして、アゾールの標的分子である CYP51 の変異が挙げられる。しかし、CYP51 に変異のない耐性株が、臨床から分離されていることから、CYP51 の変異以外の分子の関与が考えられる。そこで、CYP51 に耐性の変異がない臨床分離株を用いて、CYP51 の変異以外のアゾール耐性に関与する分子の探索を行った。結果、アゾール耐性に関与する領域を明らかにした。

[星野泰隆、石川 淳]

IV. 新しい薬物活性評価系の研究、ならびに、細胞内シグナル伝達制御の解明と応用に関する研究 プロテインキナーゼ阻害物質の検定

文部科学省新学術領域研究「がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動」化学療法基盤支援活動において、プロテインキナーゼ阻害の検定 (II) を担当した。前年度に引き続き、NRK 細胞を PDGF で刺激し、活性化される PDGF レセプターチロシンキナーゼおよび主要な細胞内シグナル伝達経路に対する阻害効果を

真菌部

ウエスタンブロットにより検出する系(アッセイ系 1)、HEK293T 細胞に 4 種のチロシンキナーゼ(ALK、IGF-1R、RET、TRKA)を一過性に発現させて、cell-based ELISA により細胞内ホスホチロシンレベルを測定する系(アッセイ系 2)を用い、支援班より依頼されたサンプルの化合物評価を行った。今年度依頼された 146 サンプルのうち、アッセイ系 1 において何らかの阻害活性があると判定されたものは 15 サンプルあった。いずれも活性は強くなく、二次評価の必要はないと判断した。アッセイ系 2 では陽性と判定されたものは 2 サンプルあったが、やはり阻害活性はそれほど強くはなく、二次評価は行わなかった。

[福山まり、且 慎吾・矢守隆夫(癌研)、深澤秀輔]

レファレンス業務

医療機関や研究機関、自治体、他省庁などからの要請にもとづき、真菌感染症の診断、真菌に関する調査、真菌症に関する相談業務などを行った。平成 27 年度は、真菌症疑いならびに診断困難例等の臨床検体からの真菌検出、血清診断、培養真菌の同定不能例における菌種同定依頼など計 41 件(菌株数:110 件、臨床検体数:45 件、環境検体数:18 件、核酸検体数:2件、パラフィン検体数:13件、抗真菌薬感受性試験依頼数:34件)、ならびに行政検査 5 件の対応にあたった。これらの検査の結果、感染症法 4 類疾患の対象となるコクシジオイデス症の病原体 *Coccidioides immitis* を検出したのは 1 件、感染症法 5 類全数把握疾患の対象となる播種性クリプトコックス症の病原体 *Cryptococcus neoformans* を検出したのは 4 件であった。

[梅山 隆、中村茂樹、中山靖子、壇辻百合香、山越智、橋本ゆき、名木 稔、星野泰隆、浦井 誠、上野圭吾、金城雄樹、宮崎義継]

品質管理に関する業務

収去検査による抗生物質医薬品の力価試験

今年度の医薬品等一斉監視指導・収去検査(後発医薬品品質確保対策)においては、抗生物質医薬品 2 品目 28 ロット(注射用セフトリアム塩酸塩 20 ロット、ロキシシロマイシン錠 8 ロット)について力価試験を担当し、日本薬局方及び日本薬局方外医薬品規格の各条収載の液体クロマトグラフィー法に準拠した定量法により行った。いずれの収去品も含有量は規格範囲内にあり、すべて「適合」と判定された。

[深澤秀輔、石川 淳、星野泰隆、浦井 誠、福山まり、宮崎義継]

国際協力関係業務

ベトナム国立衛生疫学研究所ならびにチェンマイ大学とヒストプラズマ症、クリプトコックス症およびカンジダ症の診断法と疫学調査に関する技術協力を実施した。

[名木 稔、宮崎義継]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Ikeda-Dantsuji Y, Ohno H, Tanabe K, Umeyama T, Ueno K, Nagi M, Yamagoe S, Kinjo Y, Miyazaki Y. Interferon- γ promotes phagocytosis of *Cryptococcus neoformans* but not *Cryptococcus gattii* by murine macrophages. J Infect Chemother. 21(12):831-6, 2015.
- 2) Ide S, Nakamura S, Yamamoto Y, Kohno Y, Fukuda Y, Ikeda H, Sasaki E, Yanagihara Y, Higashiyama Y, Hashiguchi K, Futsuki Y, Inoue Y, Fukushima K, Suyama N, Kohno S. Epidemiology and Clinical features of pul-

- monary nontuberculous mycobacteriosis in Nagasaki, Japan. *PLoS One*. 10(5):e0128394, 2015.
- 3) Iwanaga N, Nakamura S, Oshima K, Kajihara T, Takazono T, Izumikawa K, Yanagihara K, Sugawara A, Sunazuka T, Omura S, Kohno S. Macrolides promotes CCL2-mediated macrophage recruitment and clearance of nasopharyngeal pneumococcal colonization in mice. *J Infect Dis*. 1;212(7):1150-9, 2015.
 - 4) Kajihara T, Nakamura S, Iwanaga N, Oshima K, Takazono T, Miyazaki T, Izumikawa K, Yanagihara K, Kohno N, Kohno S. Clinical characteristics and risk factors of enterococcal infection in Nagasaki, Japan: a retrospective study. *BMC Infect Dis*. 15:426, 2015.
 - 5) Yoshida H, Seki M, Umeyama T, Urai M, Kinjo Y, Nishi I, Toyokawa M, Kaneko Y, Ohno H, Miyazaki Y, Tomono K. Invasive pulmonary aspergillosis due to *Aspergillus lentulus*: Successful treatment of a liver transplant patient. *J Infect Chemother*. 21(6):479-81, 2015.
 - 6) Liu C, Tagami K, Minami A, Matsumoto T, Frisvad JC, Suzuki H, Ishikawa J, Gomi K, Oikawa H. Reconstitution of biosynthetic machinery for highly elaborated indole diterpene penitrem. *Angew. Chem*. 54(19):5748-52, 2015.
 - 7) Asano M, Mizutani M, Nagahara Y, Inagaki K, Kariya T, Masamoto D, Urai M, Kaneko Y, Ohno H, Miyazaki Y, Mizuno M, Ito Y Successful Treatment of *Cryptococcus laurentii* Peritonitis in a Patient on Peritoneal Dialysis. *Intern Med*. 54(8):941-4, 2015.
 - 8) Ueno K, Kinjo Y, Okubo Y, Aki K, Urai M, Kaneko Y, Shimizu K, Wang D, Okawara A, Nara T, Ohkouchi K, Mizuguchi Y, Kawamoto S, Kamei K, Ohno H, Niki Y, Shibuya K, Miyazaki Y. Dendritic cell-based immunization ameliorates pulmonary infection with highly virulent *Cryptococcus gattii*. *Infect Immun*. 83(4):1577-86, 2015.
 - 9) Kimura M, Maenishi O, Enoki E, Chikugo T, Umeyama T, Ohno H, Miyazaki Y. *Aspergillus* fungal ball in central cavity of a pulmonary cryptococcal nodal lesion. *Pathol Int*. 65(6):329-31, 2015.
 - 10) Kohno S, Kakeya H, Izumikawa K, Miyazaki T, Yamamoto Y, Yanagihara K, Mitsutake K, Miyazaki Y, Maesaki S, Yasuoka A, Tashiro T, Mine M, Uetani M, Ashizawa K. Clinical features of pulmonary cryptococcosis in non-HIV patients in Japan. *J Infect Chemother*. 21(1):23-30, 2015.
 - 11) Okachi S, Wakahara K, Kato D, Umeyama T, Yagi T, Hasegawa Y. Massive mediastinal cryptococcosis in a young immunocompetent patient. *Respirol Case Rep*. 3(3):95-8, 2015.
 - 12) Takeda K, Imamura Y, Takazono T, Yoshida M, Ide S, Hirano K, Tashiro M, Saijo T, Kosai K, Morinaga Y, Nakamura S, Kurihara S, Tsukamoto M, Miyazaki T, Tashiro T, Kohno S, Yanagihara K, Izumikawa K. The risk factors for developing of chronic pulmonary aspergillosis in nontuberculous mycobacteria patients and clinical characteristics and outcomes in chronic pulmonary aspergillosis patients coinfecting with nontuberculous mycobacteria. *Med mycol*. 54(2):120-7, 2015.
 - 13) Ueno K, Urai M, Ohkouchi K, Miyazaki Y, Kinjo Y. Dendritic cell-based vaccine against fungal infection. *Methods Mol Biol*. 1403:537-49, 2016.
 - 14) Akahori Y, Miyasaka T, Toyama M, Matsumoto I, Miyahara A, Zong T, Ishii K, Kinjo Y,

Miyazaki Y, Saijo S, Iwakura Y, Kawakami K. Dectin-2-dependent host defense in mice infected with serotype 3 *Streptococcus pneumoniae*. BMC Immunol. 17(1):1, 2016.

- 15) Urai M, Kaneko Y, Ueno K, Okubo Y, Aizawa T, Fukazawa H, Sugita T, Ohno H, Shibuya K, Kinjo Y, Miyazaki Y. Evasion of innate immune responses by the highly virulent *Cryptococcus gattii* by altering capsule glucuronoxylomannan structure. Front Cell Infect Microbiol. 5:101, 2016.

2. 和文発表

- 1) 中村茂樹、宮崎義継. 臨床で注意すべき感染症治療薬の相互作用とメカニズム 抗真菌薬における相互作用. 化学療法の領域. 31(10):104-11, 2015年.
- 2) 金城雄樹、金子幸弘、梅山 隆、宮崎義継. 特集 播種性クリプトコックス症の発生動向, 2014年第39週～2015年第37週; 特集関連情報 クリプトコックス症の概要. IASR. 36(10):185-6, 2015.
- 3) 中村茂樹. 特集 播種性クリプトコックス症の発生動向, 2014年第39週～2015年第37週; 特集関連情報 クリプトコックス症の治療. IASR. 36(10):191-2, 2015.
- 4) 梅山 隆、宮崎義継. 播種性クリプトコックス症の感染症法に基づく届け出について. モダンメディア. 61(7):10-15, 2015年.
- 5) 中村茂樹、宮崎義継. 真菌の耐性化と治療戦略の変化—最新の疫学知見から—. 感染と抗菌薬. 18(2):178-85, 2015年.
- 6) 金城雄樹. クリプトコックス症. 日本公衆衛生協会. 第3版, 2015年.
- 7) 梅山 隆、宮崎義継. アスペルギルス症の問題点と *Aspergillus fumigatus* 関連菌種. 医薬ジャーナル. 51(6):103-7, 2015年.
- 8) 金城雄樹、田辺公一、上野圭吾、北野尚樹、

名木 稔、浦井 誠、星野泰隆、梅山 隆、山越 智、宮崎義継. 侵襲性カンジダ感染症の発症、炎症反応および薬剤耐性に関する基盤的研究. 化学療法の領域. 31(5):113-9, 2015年.

- 9) 掛屋 弘、金子幸弘、宮崎義継. 本症例の疑問点から研究的考察へ. 感染症学雑誌. 第89巻第3号付録, 19-20, 2015年.
- 10) 堀内一宏、掛屋 弘、金子幸弘、宮崎義継. 健常人に生じ、治療に難渋した肺クリプトコックス症を合併した脳クリプトコックス症. 感染症学雑誌. 第89巻第3号付録.15-20, 2015年.
- 11) 中村茂樹、宮崎義継. 重要な真菌症の臨床～治療を中心として～アスペルギルス症. 臨床と微生物. 43(1):45-51, 2016年.
- 12) 東 祥嗣、中村茂樹、朝野寛視、井手昇太郎、高園貴弘、宮崎泰可、泉川公一、柳原克紀、山本善裕、河野 茂. キャピリア MAC 抗体検査の精度評価と患者背景の臨床的検討. 結核. 91(2):27-32, 2016年.

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Kinjo Y, Nakahara M, Mizuguchi Y, Izawa Y, Kitano N, Ohkouchi K, Ueno K, Piao Z, Akeda Y, Miyazaki Y, Oishi K. NKT cell mediated protection against pneumococcal infection. CD1-MR1. November 15-19, 2015, Australia.
- 2) Nakamura S, Takazono T, Miyazaki T, Izumikawa K, Yanagihara K, Kohno S. 55th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. September 17-21, 2015, San Diego, USA.
- 3) Nakamura S, Oshima K, Iwanaga N, Kajihara T, Takemoto K, Takazono T, Miyazaki T, Izumikawa K, Yanagihara K, Kohno S. Effi-

真菌部

cacy of high dose meropenem (6g/day) in the treatment of experimental murine pneumonia induced by the meropenem resistant *Pseudomonas aeruginosa*. 25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. April 25-28, 2015, Copenhagen, Denmark.

2. 国内学会等

- 1) 宮崎義継. 真菌. 結核・真菌コース (大阪市大医学部), 4月28日, 2015年, 大阪.
- 2) 中村茂樹, 岩永直樹, 宮崎泰可, 関 雅文, 泉川公一, 柳原克紀, 宮崎義継, 河野 茂. 自然免疫賦活薬による緑膿菌慢性気道感染症に対する新規治療法開発への試み～動物モデルを用いた検討～. 第64回日本感染症学会東日本地方会, 10月21-23日, 2015年, 札幌.
- 3) 上野圭吾, 金城雄樹, 金子幸弘, 大野秀明, 亀井克彦, 二木芳人, 宮崎義継. *Cryptococcus gattii* を制御する樹状細胞療法はサイトカイン産生 CD4 細胞を誘導する. 第63回日本化学療法学会総会, 6月4-6日, 2015年, 東京.
- 4) 金城雄樹, 金子幸弘, 上野圭吾, 川上和義, 二木芳人, 大石和徳, 宮崎義継. 肺炎球菌蛋白・糖脂質併用ワクチン効果の基礎的解析. 第63回日本化学療法学会総会, 6月4-6日, 2015年, 東京.
- 5) 中村茂樹. MRSA 感染症の最近の話題. 第63回日本化学療法学会総会, 6月4-6日, 2015年, 東京. 化学療法学会総会, 6月4-6日, 2015年, 東京.
- 6) 名木 稔, 田辺公一, 犬飼達也, 梅山 隆, 山越 智, 大野秀明, 宮崎義継. *Candida glabrata* の細胞外ステロール取り込みが抗真菌薬感受性, 病原性に及ぼす影響. 第63回日本化学療法学会総会, 6月4-6日, 2015年, 東京.
- 7) 犬飼達也, 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 名

木 稔, 大野秀明, 宮崎義継. 病原糸状菌 *Aspergillus fumigatus* のプロテインキナーゼ AUK4 破壊株の菌糸成長・バイオフィーム形成・抗真菌薬感受性に及ぼす影響. 第63回日本化学療法学会総会, 6月4-6日, 2015年, 東京.

- 8) 犬飼達也, 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 名木 稔, 大野秀明, 宮崎義継. 病原糸状菌 *Aspergillus fumigatus* のプロテインキナーゼ AUK4 破壊株の菌糸成長・バイオフィーム形成に及ぼす影響. 第36回関東医真菌懇話会, 6月27日, 2015年, 東京.
- 9) 上野圭吾, 浦井 誠, 水口裕紀, 大河内香代, 宮崎義継, 金城雄樹. 病原性真菌 *Cryptococcus gattii* に対する樹状細胞ワクチンとその感染制御作用-ワクチンで誘導される Th1/Th17 応答と多核巨細胞の形成について-. 第26回日本生体防御学会総会, 7月10-12日, 2015年, 東京.
- 10) 仲原真貴子, 水口裕紀, 上野圭吾, 浦井 誠, 川上和義, 竹山春子, 宮崎義継, 大石和徳, 金城雄樹. 糖脂質アジュバントを含む肺炎球菌ワクチンの感染防御効果解析. 第26回日本生体防御学会総会, 7月10-12日, 2015年, 東京.
- 11) 金城雄樹. 糖脂質によるアジュバント作用を活かした肺炎球菌ワクチン開発. 第34回日本糖質学会総会, 7月31日-8月2日, 2015年, 東京.
- 12) 中村茂樹. 動物実験モデルを用いたマクロライド作用の解析. 第22回マクロライド新作用研究会, 7月17-18日, 2015年, 東京.
- 13) 金城雄樹. 糖脂質によるNKT細胞活性化を介した肺炎球菌感染防御. *Glyco-Immunology*, 8月19-20日, 2015年, 東京.
- 14) 仲原真貴子, 水口裕紀, 上野圭吾, 浦井 誠, 大河内香代, 明田幸宏, 小野寺大志, 高橋宜聖, 竹山春子, 宮崎義継, 大石和徳, 金城雄

真菌部

- 樹. 肺炎球菌蛋白・糖脂質併用ワクチンの感染防御効果解析. 第4回感染症若手フォーラム、9月6-8日、2015年、兵庫.
- 15) 新倉春香、丸山千登勢、泉川美穂、石川 淳、池田治生、新家一男、濱野吉十. 抗生物質BD-12生合成遺伝子の機能解析. 第30回日本放線菌学会大会、9月7-8日、2015年、富山.
- 16) 稲田晋宣、Yosi Nindita、曹 志生、田上道平、Alexander Lezhava、志波 優、吉川博文、石川 淳、木梨陽康、荒川賢治. *Streptomyces rochei* 7434AN4株の線状ゲノムの全塩基配列決定. 第30回日本放線菌学会大会、9月7-8日、2015年、富山.
- 17) 南 篤志、劉 成偉、田上紘一、松本知之、Jens Christian Frisvad、鈴木秀幸、石川 淳、五味勝也、及川英秋. 麹菌異種発現系を利用したペニトレム生合成マシナリーの解明. 第57回天然有機化合物討論会、9月9-11日、2015年、横浜.
- 18) 宮崎義継. 感染症対策について-院内感染防止対策と感染に関する医療安全について. 医療安全講習会(長崎県五島中央病院)、9月11日、2015年、長崎.
- 19) 宮崎義継. 侵襲性真菌感染症. 感染症学講義(富山大学医学部)、10月2日、2015年、富山.
- 20) 上野圭吾、金城雄樹、浦井 誠、大久保陽一郎、清水公德、金子幸弘、亀井克彦、大野秀明、二木芳人、澁谷和俊、宮崎義継. 樹状細胞ワクチンを用いた高病原性 *Cryptococcus gattii* に対する感染制御機構の解析. 第59回日本医真菌学会総会、10月9-10日、2015年、札幌.
- 21) 梅山 隆、中村茂樹、山越 智、名木 稔、壇辻百合香、中山靖子、浦井 誠、金城雄樹、上野圭吾、星野泰隆、宮崎義継. 治療薬選択に必要な真菌の菌種同定. 第59回日本医真菌学会総会、10月9-10日、2015年、札幌.
- 22) 犬飼達也、梅山 隆、山越 智、中村茂樹、名木 稔、田辺公一、大野秀明、宮崎義継. *Aspergillus fumigatus* AUK4の細胞接着およびバイオフィーム形成に及ぼす影響. 第59回日本医真菌学会総会、10月9-10日、2015年、札幌.
- 23) 名木 稔、田辺公一、中山浩伸、犬飼達也、梅山 隆、山越 智、中村茂樹、大野秀明、宮崎義継. カンジダ属の薬剤耐性の現状と課題. 第59回日本医真菌学会総会、10月9-10日、2015年、札幌.
- 24) 名木 稔、田辺公一、犬飼達也、中山浩伸、梅山 隆、山越 智、大野秀明、宮崎義継. *Candida glabrata*の細胞外ステロール取り込みが抗真菌薬感受性・病原性に及ぼす影響. 第59回日本医真菌学会総会、10月9-10日、2015年、札幌.
- 25) 新倉春香、丸山千登勢、泉川美穂、石川 淳、池田治生、新家一男、濱野吉十. 抗生物質BD-12生合成遺伝子の機能解析. 日本生物工学会2015年大会、10月26-28日、2015年、鹿児島.
- 26) 宮崎義継. 侵襲性真菌感染症の概要. 感染症意見交換会(国立感染症研究所)、10月26日、2015年、東京.
- 27) 宮崎義継. 侵襲性真菌症について. 医師卒後臨床研修(国立感染症研究所)、10月27日、2015年、東京.
- 28) 宮崎義継、中村茂樹、金城雄樹、名木 稔、山越 智、梅山 隆. 院内感染症としてのカンジダ症. 感染症対策セミナー(埼玉医科大学国際医療センター)、11月6日、2015年、埼玉.
- 29) 宮崎義継. 真菌と真菌症、感染系講義(長崎大学医学部)、11月13日、2015年、長崎.
- 30) 宮崎義継. 肺炎について; 肺炎球菌ワクチンを含めて(新宿区高齢者学級)、11月27日、2015年、東京.

真菌部

- 31) 中村茂樹. 御存知ですか?誤嚥性肺炎のこと. (新宿区高齢者学級)、11月27日、2015年、東京.
- 32) 宮崎義継、中村茂樹、浦井 誠、名木 稔、山越 智、梅山 隆、上野圭吾、金城雄樹. クリプトコックス・ガッティ感染症. 日本臨床検査医学会東北支部例会 (仙台 TKP カンファランスセンター)、1月16日、2016年、仙台.
- 33) 宮崎義継、梅山 隆、中村茂樹、名木 稔、星野泰隆、壇辻百合香、中山靖子、浦井 誠、上野圭吾、金城雄樹、山越 智. 感染症法に規定されている病原真菌とその対策. 第27回日本臨床微生物学会総会、1月29-31日、2016年、仙台.
- 34) 中村茂樹、名木 稔、梅山 隆、山越 智、宮崎義継. 国立感染症研究所としての真菌検査の役割. 第27回日本臨床微生物学会総会、1月29-31日、2016年、仙台.
- 35) 壇辻百合香、星野泰隆、梅山 隆、中村茂樹、中山靖子、浦井 誠、名木 稔、山越 智、上野圭吾、金城雄樹、宮崎義継. 真菌遺伝子検査標準化に向けた PCR 法の検出感度の検討. 第27回日本臨床微生物学会総会、1月29-31日、2016年、仙台.
- 36) 中村茂樹. Looking Back, Dreaming up シンポジウム: Dreaming up the Next. 第50回 緑膿菌感染症研究会. 2月4-6日、2016年、東京.
- 37) 宮崎義継. わが国に多い侵襲性真菌症の治療と展望. 第119回 沖縄臨床血液研究会 (沖縄医師会館)、2月19日、2016年、沖縄.
- 38) 上野圭吾、金子幸弘、金城雄樹. 肺真菌症に対する樹状細胞ワクチン: 肺で誘導される記憶型T細胞の解析. 第89回 日本細菌学会総会. 3月23-25日、2016年、大阪.
- 39) 中村茂樹. インフルエンザ感染後の二次性肺炎球菌性肺炎の発症メカニズム～肺炎球菌の鼻咽頭定着を中心とした解析～. 第89回 日本細菌学会総会. 3月23-25日、2016年、大阪.
- 40) 仲原真貴子、水口裕紀、上野圭吾、金子幸弘、朴 貞玉、明田幸宏、川原一芳、大石和徳、金城雄樹. 蛋白・糖脂質経鼻ワクチンによる肺炎球菌感染防御機構の解析. 第89回 日本細菌学会総会. 3月23-25日、2016年、大阪.
- 41) 宮武 浩、朴 貞玉、西川隆顕、井上雄嗣、生田和良、古泉ゆか、明田幸宏、金城雄樹、大石和徳. 肺炎球菌表層タンパク質 A (PspA) を用いた肺炎球菌ワクチンの開発. 第89回 日本細菌学会総会. 3月23-25日、2016年、大阪.
- 42) 春日 和、佐羽内彩香、牟田口祐太、志村洋一郎、石川 淳、池田治生、小嶋郁夫. 放線菌 *Streptomyces avermitilis* におけるセルラーゼ遺伝子発現と avermectin 生産. 日本農芸化学会 2016 年度大会. 3月27-30日、2016年、札幌.